

ФАРМАКОГНОЗИЯ И БОТАНИКА

Н.А.Кузьмичева, А.В.Руденко

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ МИКРО-ЭЛЕМЕНТОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОРОСТКАХ ФАСОЛИ

Витебский государственный
медицинский университет

Изучено влияние солей меди, цинка и железа на рост проростков фасоли и содержание в них флавоноидов. Обнаружено, что соли меди в микродозах ($<10^{-4}$ М) стимулируют рост фасоли, соли железа – угнетают. Зависимость содержания флавоноидов от концентрации микроэлементов в растворе имеет вид двухвершинной кривой. Содержание флавоноидов в эпикотилиях проростков при оптимальных концентрациях изученных микроэлементов увеличивается по сравнению с контролем в 1,5-3 раза.

ВВЕДЕНИЕ

Перед ботаниками и агрономами нашего времени стоит насущная задача – обеспечить продуктами питания быстро растущее население планеты [9]. В связи с этим огромное значение имеют теоретические исследования, направленные на познание механизмов стимуляции роста растений и накопления ими биологически активных веществ. Один из способов увеличения урожайности заключается во внесении в почву удобрений, тщательно подобранных по составу и количеству. [1,4,11]

О влиянии азотных, фосфорных и калиевых удобрений известно достаточно много. Влияние же микроэлементов на рост и химический состав пищевых растений еще только изучается, хотя их роль в биохимических процессах растений исключительно велика. В виде ионов различные элементы являются коферментами, т.е. небелковой частью природных катализаторов – ферментов, без которых не про-

текает практически ни одна химическая реакция в живой клетке. [5,6]

Существует два принципиально разных способа изучения влияния микроэлементов: 1) полевые опыты с внесением определенных доз микроудобрений в почву или в виде внекорневой подкормки, а также 2) опыты на проростках, выращиваемых на растворах микроэлементов. Оба способа дают вполне сопоставимые результаты, при этом второй способ значительно быстрее, проще и экономичнее. [1,7]

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния различных концентраций микроэлементов на рост проростков фасоли и содержание в них флавоноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом для исследования должно было быть пищевое растение, т.е. накапливающее значительное количество веществ первичного синтеза (белки, жиры или углеводы). Кроме того, оно должно содержать вещества вторичного синтеза в количествах, достаточных для обнаружения и возможного лекарственного применения. Методика количественного определения этих веществ, к тому же, не должна быть слишком сложной, а семена должны легко прорасти и быть не слишком требовательными к температуре и свету.

Этим условиям вполне отвечает фасоль обыкновенная, семена которой издавна используются в пищу, а в ее надземной части обнаружены флавоноиды, на основе которых возможно создание лекарственного средства. [8,10]

Материалом для исследования послужили семена фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), проращиваемые в течение 8 суток в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной водой очищенной или растворами микроэлементов в концентрациях от 10^{-2} М до 10^{-12} М. Проростки делили на четыре части: семядоли, эпикотиль, гипокотиль, корень.

Рост проростков оценивали по длине отдельных их частей в мм. Содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом: части проростков измельчали в ступке, количественно переносили в стеклянные флаконы при помощи 5,0 мл этанола, флаконы закрывали пробками, выдерживали в темноте двое суток. Затем из каждого флакона брали по 0,5 мл экстракта и прибавляли по 3,0 мл 0,05 М раствора алюминия хлорида в этаноле, раствор перемешивали и через 40 минут определяли оптическую плотность на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 415 нм против раствора сравнения, состоящего из 0,5 мл того же экстракта и 3,0 мл этанола.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сначала был определен объем раствора, необходимый для проращивания семян фасоли. Экспериментально было установлено, что для выращивания 5 семян в течение 8 дней, не допуская их высыхания, достаточно 15–18 мл раствора. При дальнейшем увеличении объема раствора семена загнивают и плесневеют. Поэтому в дальнейших опытах было использовано 18 мл раствора.

Далее изучали динамику роста проростков и накопления в них флавоноидов. Результаты представлены на рисунках 1 и 2. Кривая роста имеет классическую S-образную форму [2], причем переход на плато наблюдается на 8-е сутки развития. Динамика накопления флавоноидов в целом повторяет кривую роста. Распределение содержания флавоноидов по частям проростка приблизительно следующее: около половины суммы находится в семядолях, около четверти – в эпикотильях, чуть меньше – в гипокотильях, в корнях содержание флавоноидов минимальное. Следует отметить некоторое снижение содержания флавоноидов в гипокотильях и корнях после 8 суток развития. Таким образом, продолжительность последующих опытов была определена в 8 суток.

Далее сравнивали длину частей проростков, выращенных на воде (контроль) и на растворах микроэлементов. Оказалось, что размеры семядолей практи-

чески не зависят от того, на каких растворах выращивались проростки. Очень мало варьирует и длина эпикотилей, хотя они различались по содержанию хлорофилла. Длина гипокотилей может изменяться в зависимости от концентрации микроэлемента более чем в 2 раза (например, гипокотили проростков, выращенных на 10^{-4} М растворе ацетата цинка в 2,4 раза длиннее, чем у проростков, выращенных на воде (рис. 4)). Самой же вариабельной частью проростков является корень, причём изменяется не только длина главного корня, но и интенсивность образования боковых корней.

Влияние ионов меди, цинка и железа на рост проростков фасоли различно. Ионы меди (рис. 3) стимулируют рост по сравнению с контролем вплоть до концентрации 10^{-4} М, особенно это касается корневой системы проростков. Дальнейшее повышение концентрации приводит к токсическому эффекту.

Зависимость роста проростков фасоли от концентрации ионов цинка выражается двухвершинной кривой с максимумами 10^{-12} М и 10^{-4} М (рис. 4). Следует отметить, что при этих концентрациях увеличивается длина не только корней, но и гипокотилей, а также увеличивается число боковых корней.

Все исследованные концентрации ионов железа приводят к уменьшению размеров проростков фасоли, особенно после концентрации 10^{-6} М (рис. 5).

Таким образом, следует подчеркнуть положительное влияние на рост и развитие фасоли микродоз медного купороса, который часто используется для борьбы с вредителями, а также отрицательное – солей железа, которые присутствуют в повышенных концентрациях в глинистых и кислых почвах [2]. Влияние солей цинка неоднозначно и требует дальнейших исследований.

Зависимость содержания флавоноидов в проростках фасоли от концентрации солей меди, цинка и железа представлена на рис. 6–8. Во всех случаях она описывается двухвершинной кривой с максимумами в области концентраций 10^{-11} – 10^{-12} М и 10^{-4} – 10^{-7} М (в случае меди второй макси-

мум более узкий — 10^{-4} – 10^{-5} М растворы). Токсическое влияние микроэлементов начинается сказываться при концентрациях растворов выше 10^{-4} М.

Общий характер полученных кривых хорошо согласуется с последними данными о влиянии микроэлементов на накопление алкалоидов в проростках люпина, мака и катарантуса розового, которое также описывается уравнениями 4 степени [1]. Можно сказать, что полученные данные позволяют расширить найденную закономерность и на другой класс вторичных соединений, а именно, на флавоноиды.

Растворы изученных микроэлементов в концентрациях, соответствующих максимумам кривой, стимулируют образование и накопление флавоноидов в проростках фасоли, особенно в эпикотилиях. Это подтверждает литературные данные об участии ионов меди и железа в активации ферментов биосинтеза ароматических аминокислот [4, 11, 12], и о косвенном влиянии ионов цинка на синтез фенольных соединений через стимуляцию гормонов роста. Именно последним фактом, видимо, объясняется и форма кривой зависимости роста проростков фасоли от концентрации растворов ацетата цинка (двухвершинная кривая). Интересно отметить, что микроэлементы стимулируют рост в основном корней и гипокотилей, а содержание флавоноидов увеличивается в основном в эпикотилиях и лишь немного в гипокотилиях и корнях.

Содержание флавоноидов в эпикотилиях проростков фасоли, выращенных на 10^{-10} М растворе сульфата меди, увеличивается по сравнению с контролем в 1,7 раза. Приблизительно такой же результат и в случае выращивания проростков на 10^{-10} М растворе сульфата железа. Максимального же эффекта можно добиться при использовании 10^{-6} М раствора ацетата цинка — содержание флавоноидов увеличивается более чем в 3 раза.

Такое существенное влияние солей меди, железа и особенно цинка позволяет рекомендовать их в качестве микроудобрений при выращивании лекарственных растений, содержащих флавоноиды. Под-

бор дозы при этом должен производиться очень тщательно с учётом количества ионов, уже присутствующих в почве, чтобы добиться именно стимуляции, а не угнетения биосинтеза. При выращивании растений в условиях гидропоники это сделать значительно легче.

ВЫВОДЫ

1. При выращивании семян фасоли в чашках Петри наблюдается сигмоидный рост со снижением скорости роста и накопления флавоноидов на 8 сутки.
2. Присутствие в растворах ионов меди, цинка и железа в различных концентрациях приводит к значительным колебаниям длины корней и гипокотилей, а также содержания флавоноидов в эпикотилиях проростков. Влияние на остальные части проростков значительно меньше.
3. Зависимость содержания флавоноидов от концентрации солей меди, цинка и железа в растворе имеет вид двухвершинной кривой.
4. Соли меди в микродозах (до концентрации 10^{-4} М) стимулируют рост фасоли, соли железа — угнетают, влияние солей цинка неоднозначно.
5. Содержание флавоноидов в эпикотилиях проростков увеличивается по сравнению с контролем в 1,7 раза при выращивании на 10^{-10} М растворе сульфата меди или на 10^{-6} М растворе сульфата железа (III), и в 3,1 раза при выращивании на 10^{-6} М растворе ацетата цинка, что позволяет рекомендовать эти соли в качестве микроудобрений при тщательном подборе дозы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бузук Г.Н. Регуляция метаболизма алкалоидов в растениях с помощью физиологически активных соединений//Автореф.докт.дисс.-Витебск, 2001.
2. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология: в 3-х т.:Пер. с англ.- М.:Мир, 1990.- т.2. - С. 95; т.3, С.158-161.

3. Гринкевич Н.И., Грибовская И.Ф. Влияние внекорневой подкормки солями микроэлементов на увеличение биомассы, накопление флавоноидов и повышение активности ферментов гречиш окаймленной// *Агрохимия*.-1973.- №4.- С.98-104.
4. Гринкевич Н.И., Ковальский В.В., Грибовская И.Ф. Некорневая подкормка микроэлементами – метод повышения биологической активности лекарственного растительного сырья// *Агрохимия*.-1969.-№10.- С.72-82.
5. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: в 2-х т.: Пер. с англ.- М.:Мир, 1986.- т.1, С. 20-21; т.2, С.167, 179-196.
6. Кретович В.П. Биохимия растений: Учеб.-М.:Высш.шк., 1986.- С. 96-160, 316-325.
7. Ловкова М.Я., Бузук Г.Н., Кузьмичева Н.А. Регуляция накопления алкалоидов в растениях // *Природа*, 1985, N3. - С. 115-116.
8. Растения для нас: Справочное издание/ Блинова К.Ф., Валдышев В.В. и др./ Под ред. Яковлева Г.П. и Блиновой К.Ф.- СПб.: Учебная книга. 1996. - С.399-400.
9. Ревелль П., Ревелль Ч. Среда нашего обитания: В 4-х книгах. Кн.1. Народонаселение и пищевые ресурсы.- М.: Мир, 1994. - С.278-317.
10. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учеб.пособие/Под ред. Г.П.Яковлева и К.Ф.Блиновой.- Спб.: Специальная литература, 1999. - С.282.
11. Jensen R.A. The shikimate/arogenate pathway: link between carbohydrate metabolism and secondary metabolism//*Physiol.Plant.*-1986.-Vol.66.-№1.- P.164-168.
12. Marziach M., Lam C.H. Polyphenol oxidase from soybeans and its respons to copper and other micronutrients// *J.Plant Nutr.*- 1987.-Vol.10.-№9-16.-P.2089-2094.

SUMMARY

N.A.Kuzmichova, A.V.Rudenko

INFLUENCE OF SOME MICROELEMENTS ON THE ACCUMULATION ON THE PRIMARY AND SECONDARY COMPOUNDS IN THE HARICOT HERMS

Influencing salts of copper, zinc and iron on growth of the haricot herms and flavonoids content in them was studied. It is revealed, that the microdoses of copper ($<10^{-4}M$) boost growth of haricot herms, the salts iron - oppress. The relation of the flavonoids contents from concentration of microelements in solution looks like a bimodal curve. The flavonoids content in herms at optimum concentrations of the studied microelements is increased in 1,5-3 times.

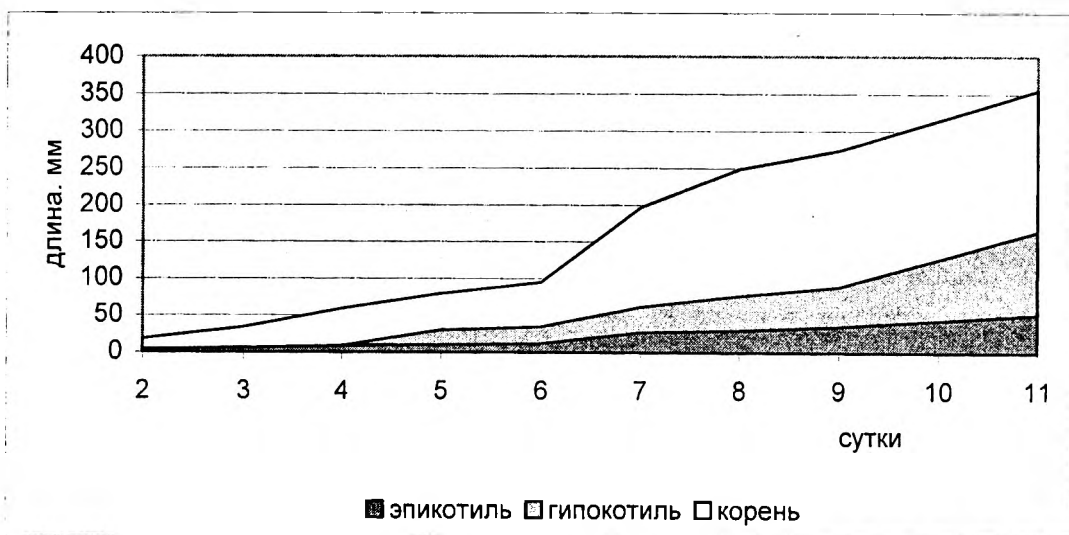


Рис. 1. Динамика роста проростков фасоли

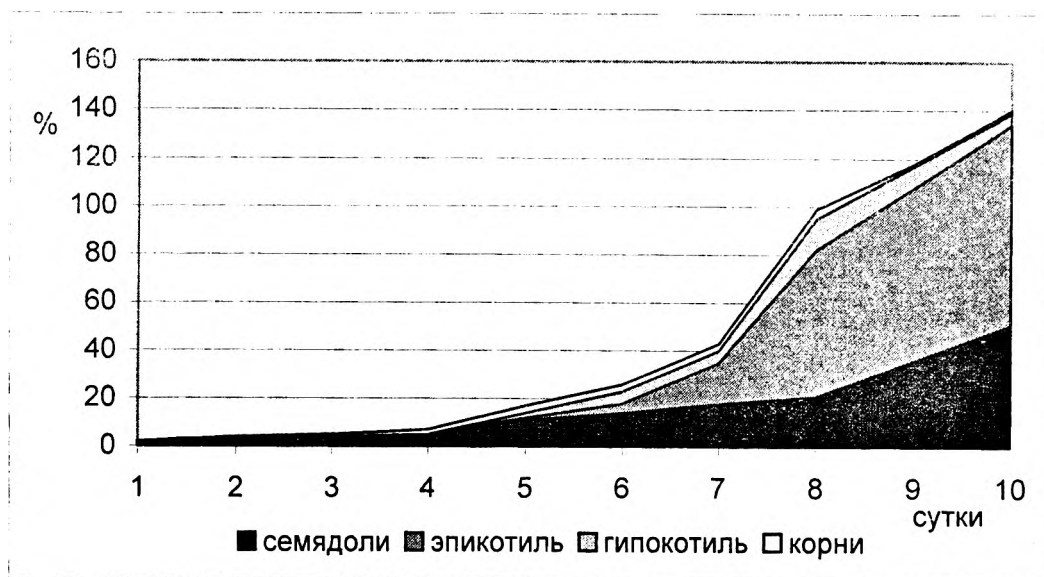


Рис. 2. Динамика накопления флавоноидов в проростках фасоли

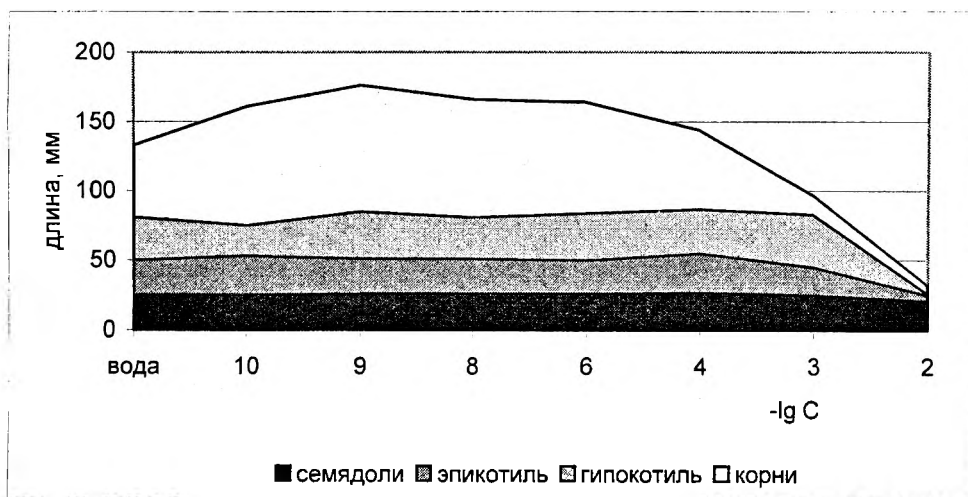


Рис. 3. Зависимость роста от концентрации ионов меди

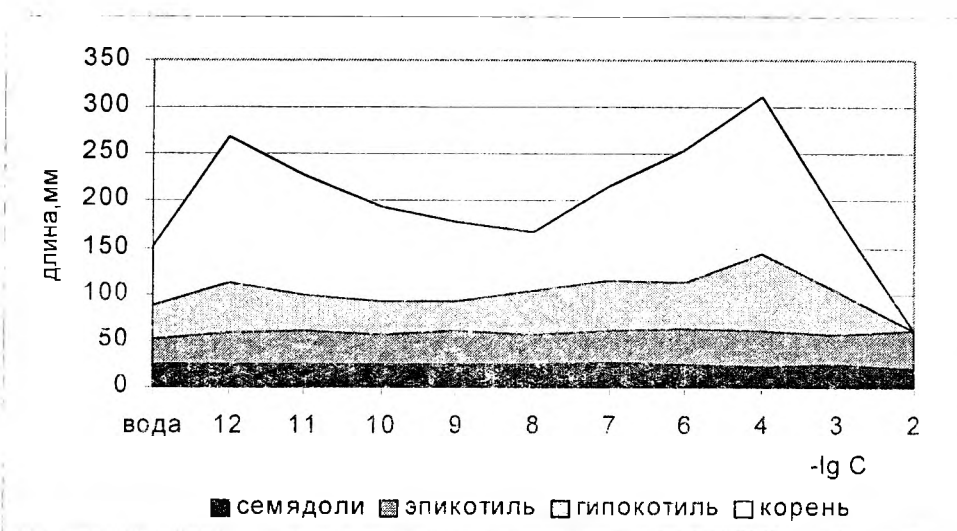


Рис. 4. Зависимость роста от концентрации ионов цинка

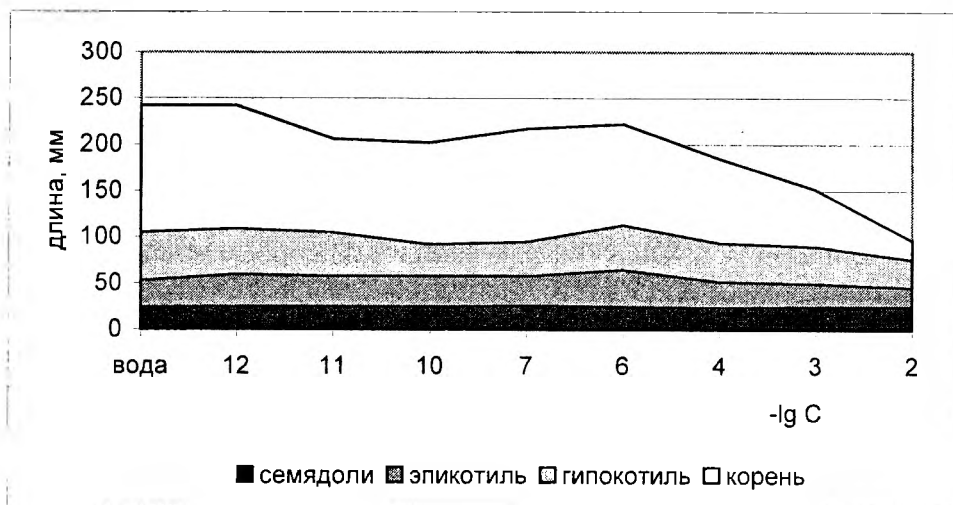


Рис. 5. Зависимость роста от концентрации ионов железа



Рис. 6. Зависимость содержания флавоноидов от концентрации ионов меди

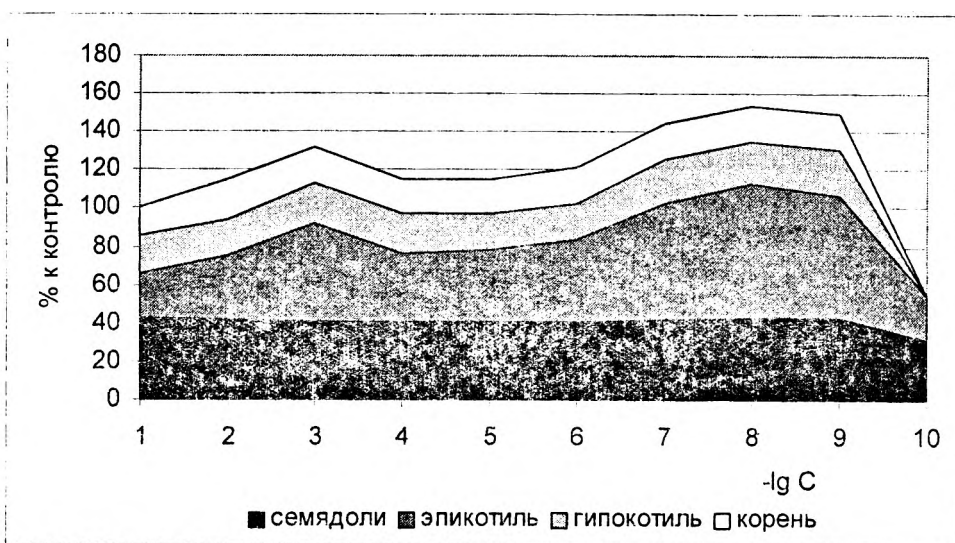


Рис. 7. Зависимость содержания флавоноидов от концентрации ионов цинка

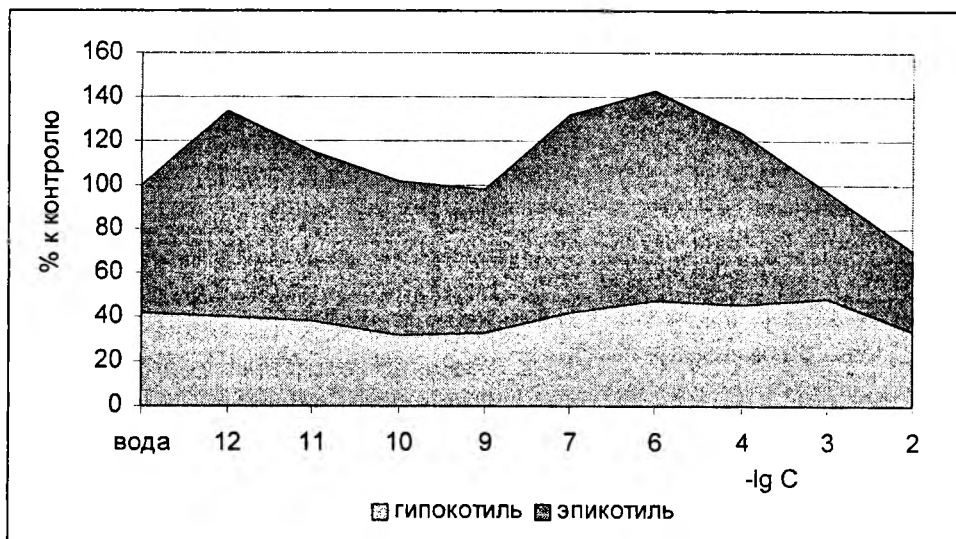


Рис. 8. Зависимость содержания флавоноидов от концентрации ионов железа